临床研究

恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片治疗慢性乙型肝炎肝纤维化96周的临床疗效

杨年欢[1],袁国盛[1],周宇辰[2],刘俊维[1],黄华萍[1],胡承光[1],熊 玲[1],李 园[1],周福元[1],杨淑玲[1],周元平[1]

[1]广东省病毒性肝炎研究重点实验室//南方医科大学南方医院感染内科,广东 广州 510515;[2]南方医科大学中西医结合医院,广东 广州 510315

摘要:目的 观察恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片对慢性乙型肝炎(CHB)肝纤维化患者的临床疗效,探索具有协同治疗作用、促进CHB肝纤维化逆转的联合治疗方案。**方法** 2010年6月~2015年6月在南方医科大学南方医院感染内科接受抗病毒治疗的CHB肝纤维化患者197例构成随访队列,按年龄、性别、LSM配对后分为恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组(以下简称A组,n=98例)和单用恩替卡韦治疗组(以下简称B组,n=99例),每12周随访1次。检测两组患者HBV DNA定量、血清学指标、血生化指标,肝脏硬度值(LSM)采用FibroScan检测,并转换为Metavir分期。**结果** 治疗后两组患者LSM均明显降低(P<0.05),A组与B组Metavir分级下降中位时间分别为72周、96周,差异有统计学显著性意义;A组和B组ALT复常中位时间分别为12周、24周,AST复常中位时间分别为24周、36周,差异均有统计学显著性意义。两组HBV DNA阴转率、HBeAg血清学转换率无明显差异。**结论** 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片能进一步改善CHB肝纤维化患者的总体疗效;对CHB肝纤维化具有协同治疗效应;复方鳖甲软肝片尚具有独立的护肝降酶作用。

关键词:乙型肝炎;肝纤维化;恩替卡韦;复方鳖甲软肝片;联合

Entecavir combined with *Fufang Biejia Ruangan* tablet in treatment of chronic hepatitis B patients with liver fibrosis: 96-week efficacy analyses

YANG Nianhuan[1], YUAN Guosheng[1], ZHOU Yuchen[2], LIU Junwei[1], HUANG Huaping[1], HU Chengguang[1], XIONG Ling[1], LI Yuan[1], ZHOU Fuyuan[1], YANG Shuling[1], ZHOU Yuanping[1]

[1]Guangdong Provincial Key Laboratory of Viral Hepatitis Research, Department of Infectious Diseases, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; [2]Traditional Chinese Medicine-Integrated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510315, China

Abstract: Objective To evaluate the effect of long-term therapy with entecavir and *Fufang Biejia Ruangan* tablet in patients with chronic hepatitis B (CHB)-associated fibrosis and explore the synergistic therapy that accelerates the reversion of liver fibrosis. **Methods** A total of 197 patients with CHB-associated fibrosis were recruited from Nanfang Hospital between June, 2010 and June, 2015. The patients were divided into two groups after matching for age, gender and liver stiffness measurement (LSM), namely group A (n=98) treated with *Fufang Biejia Ruangan* Tablet plus entecavir, and group B (n=99) to receive entecavir only. HBV DNA quantification, HBV serological indicators, blood biochemical indexes, and results of abdominal ultrasound and FibroScan were recorded every 12 weeks. FibroScan values were converted to Metavir staging. **Results** Both groups showed significant decreases in serum levels of HBV DNA, alanine aminotransferase (ALT), and LSM value from baseline (all P<0.05). The median time to achieve Metavir fibrosis staging improvement were 72 weeks in group A and 96 weeks in group B (P<0.05), and the median time to achieve ALT and AST normalization were 12 and 24 weeks in Group A, respectively, significantly shorter than the time in group B (P<0.05). No significant difference was found between the two groups in HBV DNA undetectable rate and HBeAg seroconversion rate. **Conclusion** The combination therapy with *Fufang Biejia Ruangan* tablet and entecavir produces a stronger efficacy than entecavir alone in the treatment of chronic hepatitis B patients with liver fibrosis, and *Fufang Biejia Ruangan* tablet shows an obvious hepatoprotective effect in these patients.

Key words: hepatitis B, chronic; liver fibrosis; entecavir; *Fufang Biejia Ruangan* tablet; combination

慢性乙型肝炎(CHB)病程中均伴有程度不等的肝纤维化,这是与HBV所致的肝脏炎症损伤有关联但又不同的病理过程。若不加医学干预,患者可逐渐进展为肝硬化或肝癌。强效HBV复制抑制剂恩替卡韦作为一线抗病毒药物,已经广泛应用于临床并取得了显著疗效。随着HBV被强效抑制,炎症活动常得到良好控

收稿日期:2016-03-13

基金项目:国家自然科学基金(81470856);中国肝炎防治基金会课题(XJS20120601)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81470856).

作者简介:杨年欢,在读硕士研究生,E-mail: nianhuanyang@126.com

通信作者:周元平,教授,E-mail: yuanpingzhou@163.com;杨淑玲,副主任护师,E-mail: 181818519@qq.com

制。但已经形成的肝纤维化较难有效逆转。在我国,传统医学的抗肝纤维化中成药有复方鳖甲软肝片和扶正化瘀胶囊等。复方鳖甲软肝片经20余年的临床应用,被证实具有阻断、逆转肝纤维化的功能。取中西药物之长,我们设计了配对对照的前瞻性队列研究,对CHB肝纤维化患者采用恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片或单用恩替卡韦两种治疗方案进行长期的队列随访,取得了良好疗效。现将96周时的结果和安全性数据分析报道如下。

1 对象和方法

1.1 研究对象与分组

所有研究对象均来自南方医科大学南方医院随访研究队列中的CHB病例,随访时间由2010年6月~2015年6月,共纳入197例CHB肝纤维化患者,其中男性164例,女性33例。符合研究纳入条件的患者按照年龄、性别和LSM检测值(F3及以下时,±3 kPa;F4及以上时±6 kPa)配对后按1∶1的比例分别进入恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组或单用恩替卡韦组,构成研究队列。治疗随访期间每3个月随访1次,并留取血清作相关检测。所有患者均符合2010年中华医学会肝病学分会与感染病学分会联合制订的中国慢性乙型肝炎防治指南的诊治标准[1]和2010年中国中西医结合学会肝病专业委员会制定的肝纤维化诊断标准[2]。本研究为前瞻性、单中心、对照、开放的队列研究设计。统计分析时已有197例CHB患者完成96周的治疗与随访。

1.2 病例入选与排除标准

(1)入选标准:诊断为慢性乙型肝炎,肝穿刺组织学评分S2以上或相应肝脏硬度值测定(LSM, FibroScan检测)≥7.2 kPa,对应的组织学为S2以上;中医诊断属瘀血阻络,气血亏虚,热毒未尽证候者,符合中国中西医结合学会肝病专业委员会制定的肝纤维化诊断标准[2];(2)排除标准:其他肝炎病毒重叠感染者;合并酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病者;妊娠或哺乳期妇女;ALT值超过正常参考值上限的10倍,或有肝功能失代偿病史;或有以下证据提示为肝脏肿瘤者:B超或其他影像学检查发现可疑或证实为肝癌或血清甲胎蛋白(AFP)≥200 ng/mL。

1.3 治疗方法

治疗队列包括可比性良好的恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组(A组)与单用恩替卡韦组(B组)。治疗方法如下:A组患者口服恩替卡韦片(中美上海施贵宝制药有限公司),1次/d,0.5 mg/d(1片);同时口服复方鳖甲软肝片(内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限公司),3次/d,2 mg/次(4片)。B组患者使用相同剂量、用法的恩替卡韦片治疗。联合治疗组和单用恩替卡韦组两组间的基线情况,包括:年龄、性别、ALT、AST、HBV DNA定量、HBsAg、HBeAg、AFP、LSM具有较好的可比性。

1.4 检测方法及观测指标

1.4.1 肝脏血液生物化学指标检测 采用日本Olympus AU800全自动生化分析仪,由南方医院检验科即时检测。血清HBV DNA定量检测采用Cobas Taqman-48实时荧光定量全自动分析仪(罗氏公司,瑞士)及相应的定量试剂,检测下限值为20 U/mL。HBsAg、HBeAg、AFP、HBeAb用雅培i2000平台定量检测。

1.4.2 LSM 采用法国FibroScan®仪(ECHOSENS公司产品),检测点选择右侧腋前线至腋中线第7、8肋间或第8、9肋间,连续有效检测10次,取中位数为最终测定结果,并以弹性值(kPa)表示。

1.4.3 疗效判断指标 (1)ALT复常:ALT<40 U/L;(2)HBV DNA阴转:HBV DNA<20 U/mL;(3)LSM对应Metavir分期采用文献方法[3]:F0(LSM≤5 kPa)、F1(LSM>5且≤7.1 kPa)、F2(LSM>7.1且≤9.5 kPa)、F3(LSM>9.5且≤12.5 kPa)、F4.1(LSM>12.5 kPa且≤20 kPa)、F4.2(LSM>20 kPa且≤40 kPa)、F4.3(LSM > 40 kPa);Metavir分期在治疗后下降≥1期,则定义为肝纤维化好转;(4)HBeAg阴转:HBeAg<1 S/CO;(5)HBsAg阴转:HBsAg<0.05 U/mL。

1.5 统计学方法

临床数据采用SPSS 17.0统计学软件进行分析处理,非正态分布计量资料采用中位数(极小值,极大值)描述,组内比较采用相关样本秩和检验,两组间比较采用独立样本秩和检验;计数资料的比较采用卡方检验。HBV DNA阴转中位时间、ALT复常中位时间、Metavir分级下降中位时间采用生存分析Kaplan-Meier法。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基线特征

研究队列共197例CHB肝纤维化患者进入分析,其中A组98例,B组99例,两组患者基线时的年龄、性别、LSM测定值、HBsAg、HBeAg、HBV DNA定量、血液生化检测值等的差异均无统计学意义(P>0.05),具有良好的可比性,见表1。

2.2 血清HBV DNA变化情况

随着治疗时间延长,A组与B组患者HBV DNA不可检出率与基线时比较均逐渐升高(χ^2=303.176,322.898,均P<0.001),治疗满96周时均超过90%。两组HBV DNA转阴率在治疗后第12、24、36、48、60、72、、84周分别进行比较,均无统计学差异(χ^2=0.407、0.496、0.027、1.401、0.250、0.709,均P>0.05,),96周采用Fisher确切概率法P>0.05。为进一步比较两组抗病毒效果,采用Kplan-Meier法对疗程满96周的197例患者HBV

表1 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组与恩替卡韦组的基线特征

Tab.1 Baseline characteristics between ETV plus FFBJ group and ETV group

Characteristics	ETV+FFBJ (*n*=98)	ETV (*n*=99)	Z or χ^2	*P*
Age (year)[a]	40.0 (22.0, 68.0)	41.0 (27.0, 75.0)	-1.096	0.273
Male (%)	81 (82.7%)	83 (83.8%)	0.05	0.824
HBsAg (IU/mL)[a]	1603.5 (15.5,20576.0)	1827.2 (6.0, 20576.0)	-0.366	0.715
HBeAg positive rate (%)	59 (60.2%)	47 (47.5%)	1.058	0.304
HBV DNA (lg IU/mL)[a]	5.3 (2.2, 8.3)	5.3 (3.4, 9.0)	-0.849	0.396
ALT (U/L)[a]	45.5 (12.4654.3)	51.3 (6.1, 390.5)	-0.382	0.405
AST (U/L)[a]	54.1 (37.4, 80.4)	68.2 (36.1, 85.2)	-0.877	0.381
AFP (ng/mL)[a]	7.1 (1.0, 544.0)	5.0 (2.0, 233.0)	-1.589	0.112
LSM (kPa)[a]	17.0 (7.1, 75.0)	15.3 (7.2, 75.1)	-1.116	0.264
Metavir stage			4.280	0.396
F0≤5	0	0	-	-
F1≤7.1	0	0	-	-
F2≤9.5	15 (15.3%)	17 (17.2%)	-	-
F3≤12.5	14 (14.3%)	16 (16.2%)	-	-
F4.1(12.5-20)	25 (25.5%)	32 (32.3%)	-	-
F4.2(20-50)	39 (39.8%)	33 (33.3%)	-	-
F4.3(>50)[b]	5 (5.10%)	1 (1.0%)	-	-

[a]Data that are not normally distributed are presented as the median (range) and compared between the two groups with Mann-Whitney *U* test; [b]Fisher test.

DNA累积转阴率进行分析，结果如图1所示：两组HBV DNA转阴中位时间均为12周，无统计学差异(χ^2=0.016 *P*=0.899)。

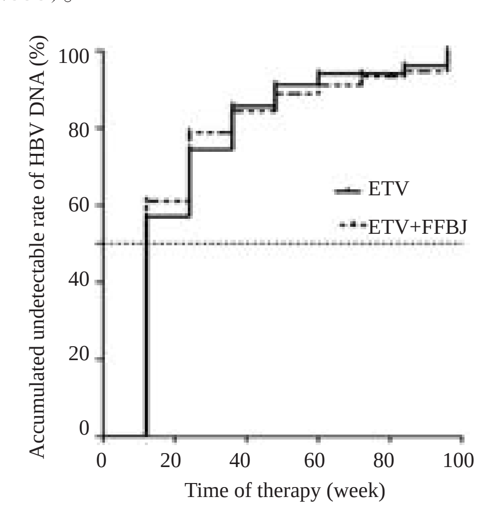


图1 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组与单用恩替卡韦组HBV DNA转阴中位时间

Fig.1 Median time for achieving undetectable rate of HBV DNA level between combination therapy (ETV+FFBJ) group and entecavir (ETV) group.

2.3 血清ALT、AST变化情况

随着治疗时间的延长，两组患者ALT累积异常率均逐渐下降(χ^2=159.841，97.50，均*P*<0.001)；组间各随访点间比较，除第12W有统计学差异外(B组与A组分别为53%、24%(χ^2=17.759，*P*<0.001))，其余访视时间均无统计学差异。AST亦随治疗时间延长，累积异常率逐渐下降(χ^2=500.003，320.000，均*P*<0.001)，两组间各随访点间比较，除第36周两组有统计学差异外(B组与A组分别为33.0%、10.1%(χ^2=15.672，*P*<0.001))。其余随访点均无统计学差异。采用Kplan-Meier法对197例患者进行ALT、AST异常率的下降情况进行分析，结果如图2中A、B所示：ALT复常中位时间A组与B组分别为12周与24周，组间比较有统计学差异(χ^2=5.489，*P*=0.019)；AST复常中位时间分别为24周、36周；A组均优于B组。组间比较的差异有统计学意义(χ^2=23.2730，*P*<0.001)。

2.4 肝脏硬度值检测结果及其变化

参考Poynard等的研究方法[3]，将LSM结果转化为对应的Metavir分期进行分析(F0≤5、F1≤7.1、F2≤9.5、F3≤12.5、F4.1≤20、F4.2≤50、F4.3>50)，其中Metavir分期下降大于等于1个等级定义为肝纤维化改善(逆转)。随着治疗时间延长，两组LSM值均明显下降，疗程至96周时，A组与B组对应Metavir分期改善率分别为52%、37%(χ^2=4.555，*P*=0.033，图3)，且LSM稳定地下降一个等级[4]的中位时间分别为72周、96周，组间比较差异有统计学意义(χ^2=14.012 *P*<0.001，图4)。

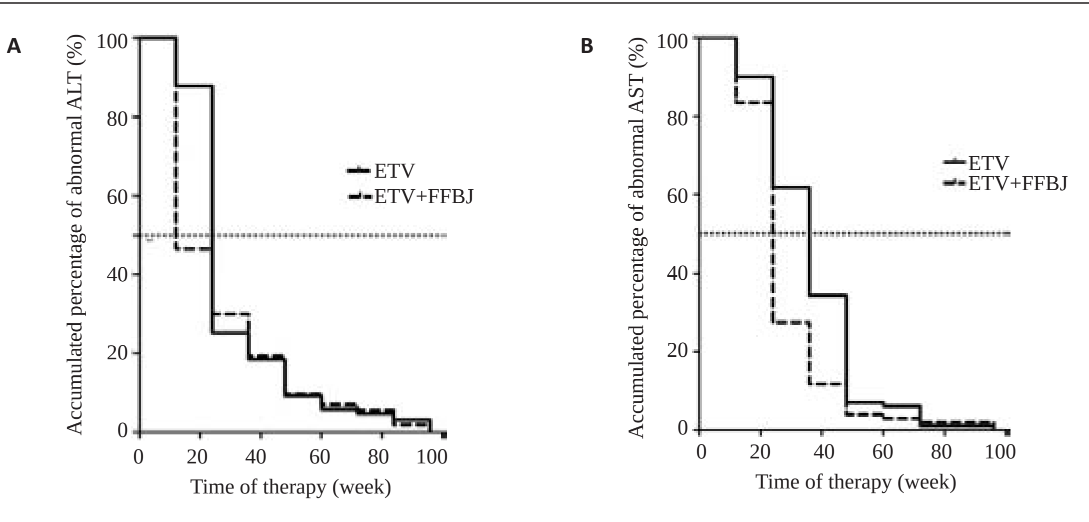


图2 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组与单用恩替卡韦组ALT、AST异常率变化曲线

Fig.2 Median time of ALT and AST biochemical response in combination therapy (ETV+FFBJ) and ETV groups.

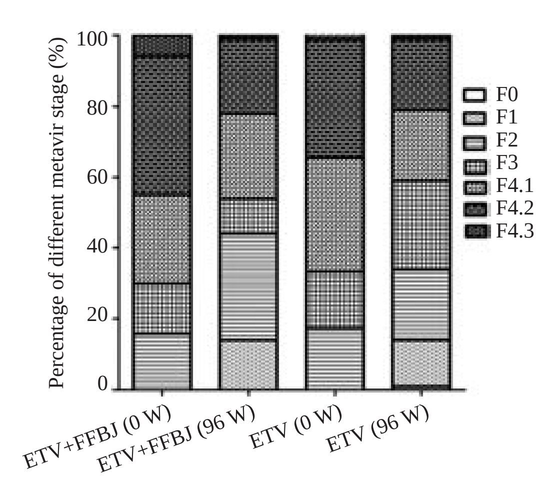


图3 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组和单用恩替卡韦组在基线及96周时的Metavir分期的分布

Fig.3 Distribution of Metavir stage in combination therapy (ETV+FFBJ) and ETV groups at baseline and at 96 weeks.

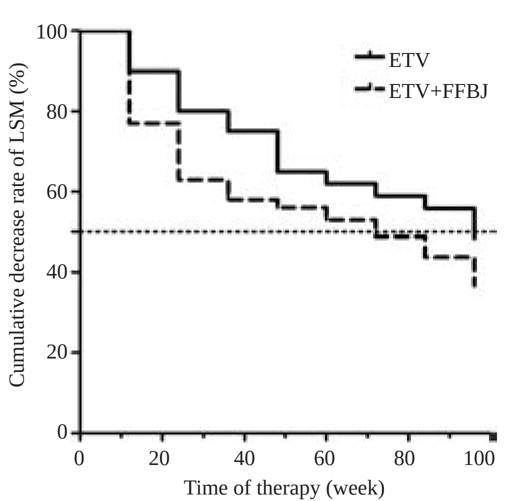


图4 恩替卡韦组联合复方鳖甲软肝片组与单用恩替卡韦组LSM稳定地下降一个等级所需中位时间曲线

Fig.4 Median time of stable LSM declination by one level in combination therapy (ETV + FFBJ) and ETV groups.

2.5 治疗过程中的不良反应

恩替卡韦治疗期间未发现与用药相关的肾功能损伤，无患者因不良反应而停止治疗；联合治疗组有5例患者餐前服用复方鳖甲软肝片后出现胃肠道不适，改为餐后服用，症状消失。

3 讨论

多年来，慢性乙型肝炎（CHB）的总体治疗目标是最大限度地长期抑制或消除HBV，减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化，延缓和阻止疾病进展[5]。然而CHB肝纤维化患者期望在抑制HBV、控制肝炎活动的同时，能有效地逆转已经形成的肝纤维化。恩替卡韦具有强效抑制HBV复制，进而控制肝细胞炎症坏死的作用，耐药率极低，为一线抗HBV药物；CHB肝纤维化久病湿热邪毒伤及肝脾，体虚伤肾，三脏邪气留恋，造成气结血瘀，阻于肝络，积聚而成癥瘕。复方鳖甲软肝片中鳖甲长于滋阴潜阳，软坚散结；当归味甘辛，活血止痛；莪术味辛，破血行气，消积止痛；三七化瘀活血止痛；赤芍清热凉血，散瘀止痛。以上5味药皆具通络作用。同时，辅以冬虫夏草、紫河车益肾填精；党参、黄芪健脾益气；佐以板蓝根、连翘清热解毒。11味药合用，既可扶正祛邪，又具活血化瘀之功效[6]。现代医学研究也证实了复方鳖甲软肝片抑制HSC的活化，促进活化HSC的凋亡，减少ECM产生的抗肝纤维化机制。近年来，有少数将恩替卡韦和抗肝纤维化中成药联合起来治疗CHB肝纤维化的报道，但样本量小，时间均未超过1年[11]，长期疗效较难肯定，未见相关的队列研究。本研究通过前瞻性队列研究的设计，将CHB肝纤维化患者分为单用恩替卡韦

组与恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组，对两种治疗方案进行较长期的治疗随访比较，分析单用抗病毒药与抗病毒药联合抗肝纤维化药物治疗的差异和安全性。结果显示恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片能够使ALT及AST复常的中位时间、LSM改善的中位时间均显著提前。证实恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片治疗CHB肝纤维化具有协同抗病毒和改善肝纤维化的治疗效应。

队列研究中，两组疗程满96周时，90%以上的患者实现了HBV DNA阴转，两组的HBV DNA阴转中位时间均为12周，与既往Su等[7]的报道基本一致，提示恩替卡韦具有快速、强效的抗病毒作用，联用复方鳖甲软肝片并不影响其抗病毒作用。随着治疗时间的延长，两组患者ALT及AST异常率均逐渐下降，而恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组较单用恩替卡韦组显示出更快的下降速度，提示复方鳖甲软肝片具有独立的护肝降酶作用，提示两者联合能够有效保护肝细胞，控制炎症坏死，为加快逆转肝纤维化提供了基础。

基于肝脏瞬时弹性成像技术的Fibroscan通过测量LSM，从而反映肝纤维化程度，其效能优于FibroTest、FibroMeter、APRI、API、FIB-4等血清生物学标志物。由于其具有无创、简便、快速、易于操作、可重复性、安全性和耐受性好的特点，目前已被中国慢性乙型肝炎防治指南推荐为乙型、丙型肝炎病毒相关肝纤维化临床评估的重要方法[8]。本实验室陈永鹏等[9-11]对FibroScan检测值与肝穿病理学评分的相关性进行了375例样本的比较研究，证实LSM值与肝穿病理分期具有良好的相关性，严格按照其设定的标准操作，诊断肝纤维化程度的准确度高。本研究即以该瞬时弹性成像的LSM值作为诊断和疗效判断指标。同时，我们参考Poynard等方法[3, 12]，将FibroScan结果转化为对应的Metavir分期进行分析（F0≤5、F1≤7.1、F2≤9.5、F3≤12.5、F4.1≤20、F4.2≤50、F4.3>50），其中Metavir分期稳定地下降大于等于1个等级定义为肝纤维化改善（逆转）。结果提示，随着治疗时间延长，单用恩替卡韦组与恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组的Metavir分期均较基线明显改善。吴刚等[13]近期报道CHB肝硬化患者用恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片（56例）和单用恩替卡韦（52例）治疗12个月，初步观察到肝纤维化改善效果，与我们的结果一致。提示上述两种方案均能有效逆转肝纤维化。队列研究至96周时，恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组与单用恩替卡韦组的Metavir分期改善率分别为52%和37%，肝纤维化改善的中位时间分别为72周和96周，差异有统计学显著性意义，提示恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片用药对逆转CHB肝纤维化具有明显的协同效应，尤其是治疗时间达到96周或以上时。

综上所述，我们建立了CHB肝纤维化患者的研究随访队列，分为恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片组与单用恩替卡韦组。随访96周时发现联合治疗组在改善CHB肝纤维化患者的生化学指标上疗效确切；在逆转肝纤维化方面具有协同治疗效应。治疗期间患者无明显不良反应。然而，与国际多中心临床队列研究相比，197例的病例数仍显单薄，接受前后2次肝穿病理学检查的患者仅12例（资料未显示，在档），不足10%。若能将队列扩大到1000例以上，随访5年或以上，接受肝穿病理学检查者达到25%以上，并对取得协同疗效的机制展开深入研究，对总体生活质量获益与药物经济学展开深入研究，将取得更有说服力的临床研究数据，临床推广应用后将使更多的CHB肝纤维化患者获益。

参考文献：

[1] 中华医学会肝病学分会. 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2011, 03(1): 40-56.

[2] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 药品评价, 2007, 4(4): 260-4.

[3] Poynard T, Vergniol J, Ngo Y, et al. Staging chronic hepatitis B into seven categories, defining inactive carriers and assessing treatment impact using a fibrosis biomarker (FibroTest®) and elastography (FibroScan®) [J]. J Hepatol, 2014, 61(5): 994-1003.

[4] Wong GL, Wong VW, Choi PC, et al. On-treatment monitoring of liver fibrosis with transient elastography in chronic hepatitis B patients[J]. Antivir Ther, 2011, 16(2): 165-72.

[5] 徐 严, 王江滨, 徐 杰, 等. 恩替卡韦治疗104例乙型肝炎肝硬化患者96周的疗效观察[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(2): 109-12.

[6] 陆 宁, 徐 园, 程伟妮. 阿德福韦酯联合复方鳖甲软肝片治疗乙型肝炎肝纤维化临床观察[J]. 中西医结合肝病杂志, 2010, 20(4): 209-11.

[7] Su TH, Kao JH. Improving clinical outcomes of chronic hepatitis B virus infection[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2015, 9(2): 141-54.

[8] 肝脏硬度评估小组. 瞬时弹性成像技术诊断肝纤维化专家意见[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(6): 420-4.

[9] Liang XE, Chen YP, Dai M et al. Liver stiffness measurement in Chinese adult male population from a community cohort [J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, 2011, 19(12): 934-5.

[10] Chen YP, Liang XE, Zhang Q, et al. Larger biopsies evaluation of transient elastography for detecting advanced fibrosis in patients with compensated chronic hepatitis B[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2012, 27(7): 1219-26.

[11] 梁携儿, 陈永鹏, 戴 萌, 等. 广东省某社区成年男性的肝脏弹性值分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(12): 934-5.

[12] Poynard T, Vergniol J, Ngo Y, et al. Staging chronic hepatitis C in seven categories using fibrosis biomarker (FibroTest ™) and transient elastography (FibroScan®) [J]. J Hepatol, 2014, 60(4): 706-14.

[13] 吴 刚, 何鸿雁, 李 烨, 等. 复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦对HBV相关肝硬化患者的临床疗效观察[J]. 中华肝脏病杂志, 2014, 22(8): 604-8.

（编辑：孙昌朋）